

# 碳源性质和 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 对硝酸盐还原途径的影响

尹志轩<sup>1,2</sup>, 谢 丽<sup>2</sup>, 周 琪<sup>2</sup>, 毕学军<sup>1</sup>

(1. 青岛理工大学环境与市政工程学院, 山东青岛 266033; 2. 同济大学环境与市政工程学院, 上海 200092)

[摘要] 通过批次试验考察了实际工业有机废水的碳源性质和 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 对硝酸盐还原途径的影响。研究表明, 木薯酒糟中含有大量的大分子易发酵有机物(如碳水化合物和蛋白质等), 更易发生异化硝酸盐还原为铵(DNRA)过程; 而葡萄糖合成废水和木薯酒精废水厌氧出水中, 硝酸盐还原途径主要是通过反硝化进行的。虽然基质不同, 但 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 对硝酸盐还原途径的影响却呈现出相同的规律, 即随着 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 增大, 反硝化所占的比例逐渐减小, DNRA 占的比重逐渐增大。

[关键词] 碳源; COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N; 反硝化; 异化硝酸盐还原为铵

[中图分类号] X703 [文献标识码] A [文章编号] 1005-829X(2018)05-0058-04

## Influences of carbon source property and COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ratio on nitrate reduction pathway

Yin Zhixuan<sup>1,2</sup>, Xie Li<sup>2</sup>, Zhou Qi<sup>2</sup>, Bi Xuejun<sup>1</sup>

(1. School of Environmental Municipal Engineering, Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266033, China; 2. College of Environmental and Municipal Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

**Abstract:** The influences of carbon source property and COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ratio in real industrial organic wastewater on nitrate reduction pathway has been investigated through patch tests. The results show that cassava lees contains a great number of macromolecular organic substances which can easily be fermented, such as carbohydrate, proteins, etc. Besides, the process of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) occurs more easily. The nitrate reduction pathway is implemented by denitrification, in the anaerobic effluent from glucose synthetic wastewater and cassava alcohol wastewater. Although their substrates are different, the influences of COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ratio on nitrate reduction pathway behaves according to the same rule. With the increase of COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ratio, the proportion of denitrification in nitrate is reduced gradually, but the specific weight of DNRA is increased gradually.

**Key words:** carbon source; COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ratio; denitrification; dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA)

工业有机废水生物脱氮工艺通常采用硝化-反硝化技术, 氨氮硝化产生硝酸盐, 需要有机碳源将其还原成氮气(即反硝化)<sup>[1]</sup>。而除了反硝化以外, 微生物对硝酸盐的还原转化还可能通过异化硝酸盐还原为铵(DNRA)的途径。这个过程一般在有机物含量高、硝酸盐少(即电子受体受限制)的情况下发生。J. C. Akunna 等<sup>[2]</sup>以葡萄糖为碳源, 发现当 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N < 8.86, 只发生反硝化过程; 当 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N > 53 时, 主要发生 DNRA 过程; 但是以乙酸钠为碳源时, 即使 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 为 100, 也未发现 DNRA 过程的发生<sup>[3]</sup>。而 M. Quevedo 等<sup>[4]</sup>认为易发酵有机物为底物有利于实现 DNRA 过程。由此可见, 硝酸盐还原途径可能受废水中 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和碳源性质的影响, 并可能会导致

不同的脱氮效率<sup>[5-7]</sup>。目前针对硝酸盐还原途径的研究均以合成有机废水或纯基质为碳源, 缺乏对实际工业有机废水及实际工业有机废水与纯基质的对比研究。因此, 笔者分别以木薯酒糟、木薯酒精废水一级厌氧出水、合成葡萄糖废水为基质, 批次试验, 对比不同 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 下 3 种基质对硝酸盐还原途径的影响。

### 1 实验材料和方法

#### 1.1 实验用水与接种污泥

木薯酒糟和木薯酒精废水一级厌氧出水取自江苏某木薯酒精厂, 废水水质见表 1。

由表 1 可知, 木薯酒糟属于高浓度、高含固有机废水, 将其稀释 1 倍后用于批次试验。另外, 木薯酒糟

[基金项目] 中国博士后科学基金(2017m612228); 青岛市博士后应用研究项目(2016196)

表 1 两种废水水质特征

参数	木薯酒糟	木薯酒精废水厌氧出水
总固体(TS)	70 000~73 000	1 300~2 100
挥发性固体(VS)	58 000~59 000	1 200~1 800
TCOD	75 000~76 000	4 200~7 800
SCOD	42 000~42 800	3 000~5 000
碳水化合物	6 400~6 800	200~500
蛋白质	1 200~1 700	600~800
乙酸	600~850	700~1 000
丙酸	60~100	200~300
丁酸	20~50	80~100
戊酸	未检出	100~120
TN	580~840	330~780
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	40~80	150~580
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	2~6	0~2
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	1~2	0~1
pH	3.7~4.0	7.8~8.4

注:除 pH 外,其他所有指标单位均为 mg/L。

中的 TN 主要为有机氮,而木薯酒精废水厌氧出水中的 TN 主要为氨氮。

人工合成葡萄糖废水用蒸馏水配制,水质:葡萄糖 4.50 g/L、NH<sub>4</sub>Cl 0.46 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.10 g/L、NaHCO<sub>3</sub> 33.0 g/L、微量元素溶液 2 mL/L。微量元素母液所含物质:EDTA 5.0 g/L、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 5.5 g/L、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5.0 g/L、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.2 g/L、CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1.6 g/L、MnCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 5.0 g/L、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 1.6 g/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5.0 g/L、NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.6 g/L、Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 5.0 g/L。实验废水在使用前置于 4 °C 冰箱中保存。

接种污泥取自无锡某造纸厂 IC 反应器的颗粒污泥,使用前未经硝酸盐或亚硝酸盐驯化。配制 50 g/L NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 母液作为氮源。

### 1.2 批次试验方法

批次试验反应器为 500 mL 血清瓶,有效体积为 400 mL。在反应器中加入 100 mL 的接种污泥和 300 mL 的实验废水,用 5 mol/L 的 NaOH 调节各反应器初始 pH 为 7.80±0.05。用高纯氮气曝气 3 min 以脱除反应器混合液中的氧气。分别向各反应器中投加一定量的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 母液,得到不同初始 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的反应体系,结果见表 2。

表 2 批次试验操作条件

初始硝酸盐/ (mg·L <sup>-1</sup> )	初始 COD/NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N		
	木薯酒糟	木薯酒精废水厌氧出水	葡萄糖合成废水
1 400~1 500	30	3	3
800~1 000	41	5	5
450~600	77	8	7
200~300	152	19	18
70~80		55	50

同时设置不投加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的反应器做为空白反应器对照。将反应器置于恒温旋转水浴摇床中,控制转速为 110 r/min,温度为 35 °C。间隔一定时间取混合

液进行相关指标的测定分析。每组实验操作条件设置 3 个平行实验,实验结果为 3 个平行实验的平均值。

### 1.3 分析测试方法

取混合样品测试 pH、总 COD(TCOD)、TN。混合液样品于高速离心机(10 000 r/min)中离心 10 min,取上清液用 0.45 μm 的滤膜进行压滤式过滤,测定滤液的溶解性组分:如 SCOD、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、碳水化合物、蛋白质及挥发性脂肪酸(VFAs)。TS、VS 采用标准重量法测定。pH 采用 510 型 pH 计(CyberScan)测定。COD 采用重铬酸钾比色法通过 DR2800 型分光光度计比色测定(HACH)。TN 采用 TOC-V CPN 型 TOC/TN 分析仪(岛津)测定。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 采用 ICS 3000 型离子色谱仪(Dionex)测定。溶解性碳水化合物采用苯酚/硫酸法测定<sup>[8]</sup>,溶解性蛋白质采用福林-酚法测定<sup>[9]</sup>。VFA 采用 6890N 型气相色谱仪(Agilent)测定<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 各系统中硝酸盐/亚硝酸盐浓度的变化

以木薯酒糟、木薯酒精废水厌氧出水和葡萄糖合成废水为碳源时,不同 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 条件下各反应体系中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 随反应时间的变化情况见图 1。

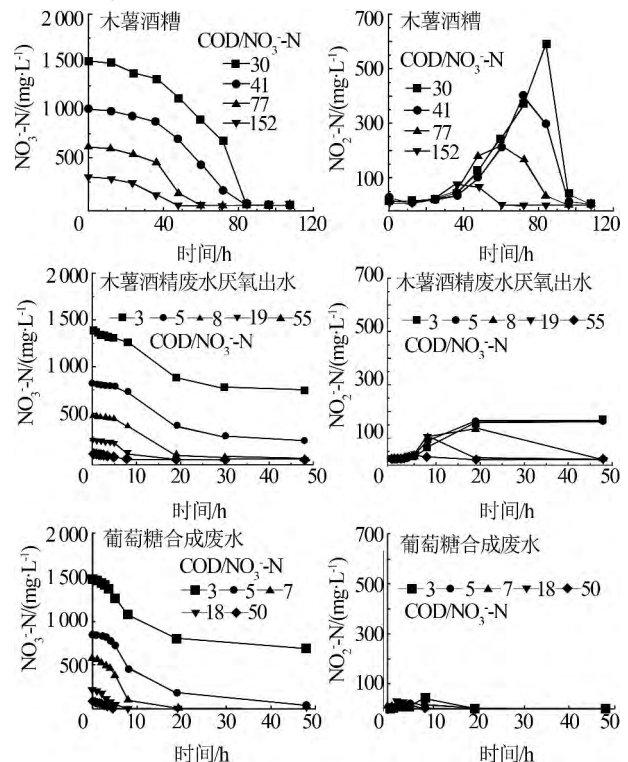


图 1 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度随时间的变化

由图 1 可知,在一定时间内不同反应体系中的硝酸盐均可被还原,但硝酸盐的还原速率各有不

同。还原速率:葡萄糖合成废水>木薯酒精废水厌氧出水>木薯酒糟。还原速率也反映出各种基质被硝酸盐还原菌利用的难易程度。木薯酒糟成分复杂,属于高浓度、高含固体有机废水,其中虽含有大量碳水化合物和蛋白质等大分子碳源,但大多不能直接被硝酸盐还原菌所利用。而木薯酒糟经过一级厌氧消化后产生的厌氧出水中含有大量不同类型的挥发酸,更容易被硝酸盐还原菌利用。葡萄糖合成废水发酵可产生大量易被硝酸盐还原菌利用的乙酸和丁酸,因此常被作为外加碳源用于反硝化脱氮<sup>[3]</sup>。

除此之外,各系统中出现了不同程度的亚硝酸

盐积累现象。在每组反应器中,初始  $\text{NO}_3^--\text{N}$  浓度越高,COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$  较低,碳源不足, $\text{NO}_2^--\text{N}$  积累量越大。而不同基质中  $\text{NO}_2^--\text{N}$  最大积累量:木薯酒糟(585 mg/L)>木薯酒精废水厌氧出水(145 mg/L)>葡萄糖合成废水(40 mg/L)。该结果进一步证实了木薯酒糟中的碳源不易于被  $\text{NO}_3^--\text{N}$  还原菌利用,从而造成了  $\text{NO}_2^--\text{N}$  的长时间积累。与其他基质相比,葡萄糖合成废水更易于被用于  $\text{NO}_2^--\text{N}$  的还原过程, $\text{NO}_2^--\text{N}$  仅有少量暂时的积累并迅速被消耗。

不同 COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$  条件下以不同基质为碳源时,氨氮的变化见图 2。

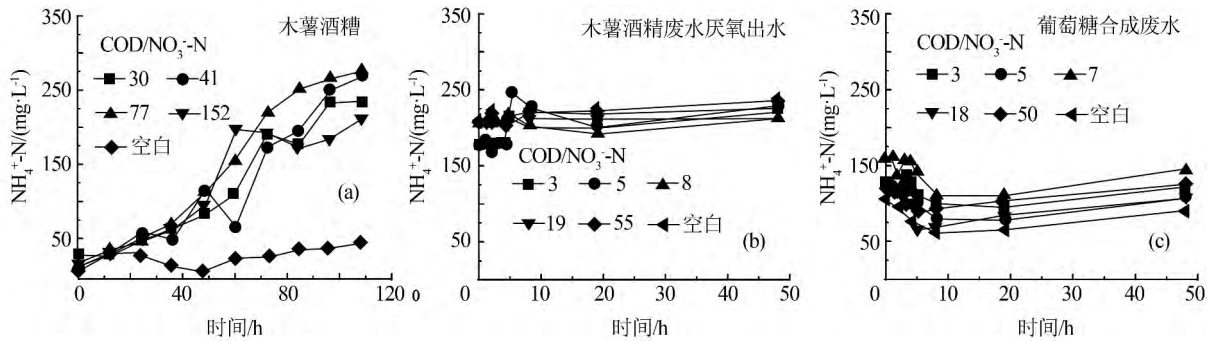


图 2 不同 COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$  条件下以不同基质为碳源时氨氮浓度的变化

由图 2(a)可知,以木薯酒糟为碳源时,空白反应器中的氨氮质量浓度仅略有提高(氨氮质量浓度增加量<50 mg/L)。而投加硝酸盐后,反应器中氨氮质量浓度显著提高(约 300 mg/L),说明该体系中发生了明显的 DNRA 过程。

由图 2(b)可知,以木薯酒精废水厌氧出水为碳源时各体系中氨氮浓度变化并不显著。此外,20 h 后(此时硝酸盐还原过程基本结束)氨氮浓度略有升高,这可能是由于其中的有机氮厌氧降解释放了氨氮。

由如图 2(c)可知,以葡萄糖合成废水为碳源的各体系中氨氮浓度都出现先降低后升高的现象,且反应结束后的氨氮浓度都小于其初始氨氮浓度,减少的氨氮有可能被微生物利用进行生长活动或者与配水中的微量元素形成了磷酸铵镁沉淀。值得注意的是,在投加硝酸盐的以木薯酒精废水厌氧出水和葡萄糖合成废水为碳源的体系中,所有 COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$  条件下的氨氮浓度变化趋势均与相应的空白反应器相同,同时在这些体系中均测得氮气含量明显升高,这表明在这些反应体系中 DNRA 过程不明显,反硝化作用是硝酸盐还原的主要途径。

### 2.2 碳源性质和 COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$ 对硝酸盐的还原途径的影响

不同基质中不同 COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$  条件下硝酸盐的

代谢情况见表 3。

由表 3 可知,以木薯酒糟、木薯酒精废水厌氧出水、葡萄糖合成废水为碳源时,24 h 内达到 95% 以上硝酸盐还原率相应的 COD/ $\text{NO}_3^--\text{N}$  分别为 152、8、5(对应硝酸盐投加量分别为 301、466、840 mg/L)。也就是说,在相同的时间内葡萄糖合成废水中硝酸盐还原量远多于其他两种基质,硝酸盐还原过程更容易利用葡萄糖作为碳源。而尽管木薯酒糟中碳源也很充足,但其中的碳源难于利用,硝酸盐还原速率较低,与相同硝酸盐投加量的其他两种基质相比,在 48 h 内被还原的硝酸盐量最少。

硝酸盐代谢途径也受到碳源性质的很大影响。笔者研究中,含有大量的大分子易发酵的有机物(如碳水化合物和蛋白质等)的木薯酒糟中更易发生 DNRA 过程;虽然葡萄糖也属于易发酵有机物,但其硝酸盐还原途径与木薯酒精废水厌氧出水更相似,主要是通过反硝化进行的。J. C. Akunna 等<sup>[11]</sup>以葡萄糖为碳源,发现 DNRA 主要发生在葡萄糖发酵产酸阶段,而随着葡萄糖浓度的降低和乙酸浓度的增加,反硝化成为硝酸盐还原的主要途径,在硝酸盐被完全还原后甲烷的产量才升高。因此,以易发酵的有机底物为碳源时,易发生 DNRA 过程;挥发酸等不易发酵的有机物为碳源时,则更易发生反硝化<sup>[3-4,12]</sup>。研



表 3 不同碳源类型及 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 条件下硝酸盐的还原途径

碳源类型	COD/NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	初始质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )			末期质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )			硝酸盐 48 h 还原率/%	DNRA/%	反硝化/%
		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN			
木薯酒糟	30	1 512	27.6	1 865	3.3	234	592	24.9	10.4	89.6
	41	1 008	7.4	1 377	3.0	272	574	31.2	19.8	80.2
	77	612	15.0	910	4.1	274	587	78.1	35.4	64.6
	152	301	11.2	653	3.0	210	475	99.1	38.7	61.3
木薯酒精废水厌氧出水	3	1 377	177	1 555	745	225	1118	45.9	3.5	96.5
	5	806	173	980	196	231	571	75.7	5.2	94.8
	8	466	200	666	6.4	212	218	98.6	2.5	97.5
	19	203	208	411	0	213	213	100	2.2	97.8
	55	69.3	205	285	0	221	221	100	15.1	84.9
葡萄糖合成废水	3	1 481	131	1 613	686	123	810	53.7	1.0	99.0
	5	840	119	960	38.4	108	147	95.4	0.6	99.4
	7	578	159	738	1.8	145	146	99.7	0.4	99.6
	18	218	125	344	0	106	106	100	1.3	98.7
	50	75.9	119	180	0	128	128	100	5.1	94.9

注:DNRA/%= $\Delta\rho\text{NH}_4^+-\text{N}/(\Delta\rho\text{TN}+\Delta\rho\text{NH}_4^+-\text{N})$ ,式中: $\Delta\rho\text{TN}$ 为净总氮变化量,即去除空白组总氮的变化量;反硝化/%= $\Delta\rho\text{TN}^*/(\Delta\rho\text{TN}^*+\Delta\rho\text{NH}_4^+-\text{N})$ 。

究中葡萄糖合成废水产酸过程迅速,葡萄糖发酵产生的挥发酸是硝酸盐还原的主要电子供体,因此硝酸盐还原途径主要是通过反硝化进行的。

值得注意的是,以木薯酒糟为基质时,随着 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 增大,反硝化所占的比例逐渐减小, DNRA 占的比重逐渐增大。E. Rustrian 等<sup>[12]</sup>的研究也表明, COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 会影响硝酸盐的代谢途径,反硝化活性随着 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 增大而降低,当 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N>130 mg/L 时 DNRA 过程成为硝酸盐代谢的主要途径。

### 3 结论

碳源性质和 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 对硝酸盐还原速率及硝酸盐还原途径的影响显著。不同基质中硝酸盐的还原速率:葡萄糖合成废水>木薯酒精废水厌氧出水>木薯酒糟。与其他基质相比,木薯酒糟中的碳源不易于被亚硝酸盐还原菌利用,因此出现了亚硝酸盐长时间的积累情况。而葡萄糖合成废水更易于被用于亚硝酸盐的还原过程,因而亚硝酸盐仅有少量暂时的积累就迅速被消耗。此外,木薯酒糟中含有大量的大分子易发酵的有机物(如碳水化合物和蛋白质等),更易发生 DNRA 过程;虽然葡萄糖合成废水也属于易发酵有机物,但其硝酸盐还原途径与木薯酒精废水厌氧出水类似,主要是通过反硝化进行的。这是由于葡萄糖合成废水产酸过程迅速,葡萄糖发酵产生的挥发酸才是硝酸盐还原的主要电子供体。以木薯酒糟为基质时,随着 COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 比增大,反硝化所占的比例逐渐减小, DNRA 占的比重逐渐增大。

#### 参考文献

[1] 袁怡,黄勇,李祥.工业废水反硝化技术研究进展[J].工业水处理,2013,33(4):1-5.

- [2] Akunna J C, Bizeau C, Moletta R. Denitrification in anaerobic digesters: Possibilities and influence of wastewater COD/N-NO<sub>3</sub> ratio[J]. Environmental Technology, 1992, 13(9): 825-836.
- [3] Akunna J C, Bizeau C, Moletta R. Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol[J]. Water Research, 1993, 27(8): 1303-1312.
- [4] Quevedo M, Guynot E, Muxí L. Denitrifying potential of methanogenic sludge[J]. Biotechnology letters, 1996, 18(12): 1363-1368.
- [5] Ramakrishnan A, Gupta S K. Effect of COD/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ratio on the performance of a hybrid UASB reactor treating phenolic wastewater[J]. Desalination, 2008, 232(1): 128-138.
- [6] 裴廷权, 杨小毛, 刘欢, 等. 不同缓释碳源对低碳氮比污水反硝化的影响[J]. 工业水处理, 2013, 33(5): 40-43.
- [7] 唐嘉陵, 王晓昌, 夏四清, 等. 不同碳源条件下 A/O-MBR 的脱氮性能对比研究[J]. 工业水处理, 2015, 35(6): 31-34.
- [8] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical chemistry, 1956, 28(3): 350-356.
- [9] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. J. Biol. Chem., 1951, 193(1): 265-275.
- [10] 尹志轩, 谢丽, 王蕊, 等. 亚硝酸盐对厌氧产酸耦合反硝化工艺的影响[J]. 化工学报, 2014, 65(9): 3640-3646.
- [11] Akunna J C, Bizeau C, Moletta R. Nitrate reduction by anaerobic sludge using glucose at various nitrate concentrations: ammonification, denitrification and methanogenic activities[J]. Environmental Technology, 1994, 15(1): 41-49.
- [12] Rustrian E, Delgenes J, Bernet N, et al. Nitrate reduction in acidogenic reactor: influence of wastewater COD/N-NO<sub>3</sub> ratio on denitrification and acidogenic activity [J]. Environmental Technology, 1997, 18(3): 309-315.

[作者简介] 尹志轩(1988—), 博士。电话: 18366290199。E-mail: zhixuanyin@outlook.com。

[收稿日期] 2018-02-19(修改稿)